Untersuchungen über die vermehrte Thrombinbildung bei Patienten mit Diabetes mellitus

Peter G. Jerg

1972

DISSERTATIONS– UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
Dir.: Prof. Dr. H. Schwiegk

Untersuchungen über die vermehrte Thrombinbildung bei Patienten mit Diabetes mellitus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von
Peter G. J e r g
aus Risstissen.

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. R. Marx
2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Schwiegk
Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG S. 1

II. METHODIK UND VERFAHREN S. 4

1. Hämatokrit S. 4

2. Thrombozytenzählung S. 4

3. Thrombokinasezeit S. 4

4. Thrombin-Generation-Test im thrombozytenhaltigen Plasma S. 5

5. TGT im thrombozytenfreien Plasma S. 6

6. Eichkurve S. 6

7. TGT im durchaktivierten Plasma S. 7

8. Stypven-Test S. 8

III. VORUNTERSUCHUNGEN S. 9

A Versuche am Schwein S. 9

B Versuche am Kaninchen S.12

C Injektion von Tachostyptan bei 2 Personen S.18

D Zufuhr phosphatidreicher Nahrung bei 2 Pers. S.21

IV. EXMERIMENTELLE ERGEBNISSE S.23

1. Normalwerte nüchterner Personen S.23

2. Normalwerte im postprandialen Plasma S.26

3. Diabetiker ohne Hyperlipidämie-mit Tabletten eingestellt S.3o

4. Diabetiker ohne Hyperlipidämie-mit Insulin eingestellt S.34

5. Diabetiker mit Hyperlipidämie-mit Tabletten eingestellt S.37

6. Diabetiker mit Hyperlipidämie-mit Insulin eingestellt S.4o

V. DISKUSSION S.44

VI. ZUSAMMENFASSUNG S.52

VII. LITERATUR S.53

ANHANG MIT ABBILDUNGEN S.62

EINLEITUNG

Seit der Einführung des Insulins in die Therapie des Diabetes mellitus haben sich die Todesursachen der Patienten mit Diabetes mellitus grundlegend geändert. Untersuchungen der Joslin-Klinik zufolge starben in der Vor-Insulin-Aera in den Jahren 1898 bis 1914 63,8% aller Diabetiker im Coma diabeticum, während nur 17,5% an Arteriosklerose und deren Komplikationen starben. Nach Einführung des Insulins ging die Zahl der Diabetiker die im Coma starben im Jahre 1836 auf 8,3% und in den Jahren 195o bis 1955 auf 1,3% zurück. In den gleichen Zeiträumen stiegen die durch Arteriosklerose (Makro- u. Mikroangiopathien) bedingten Todensursachen auf 54,3% bezw. 75,9%. Gleichzeitig stieg die durchschnittliche Krankheitsdauer von 4,9 Jahren (1898 bis 1914) auf 15,6 Jahre (195o bis 1955). Es wäre jedoch falsch hieraus die Schlußfolgerung zu ziehen, die Arteriosklerose sei eine typische Spätkomplikation des Diabetes mellitus. Bereits beim latenten Diabetes mellitus besteht eine Korrelation zur Angiopathie (FLORA). Auch die häufig beobachtete verminderte Glucosetoleranz bei Patienten mit arteriosklerotischen Obturationen der Extremitätenarterien oder eine Koronarinsuffizienz weisen auf enge kausale Beziehungen zwischen Arterio-

sklerose und Diabetes mellitus hin (JIPP).
Die Angaben über Arterienverschlüsse bei manifestem Diabetes mellitus schwanken zwischen 18% (FUROVICS), 42% (MEHNERT) und 56% (ALBRINK). Dass diese Zahlen nicht zu hoch sind beweisen die Untersuchungen von KANNEL und WIDMER, die in einer nichtselektierten Population 5 bis 6mal häufiger thrombotische Verschlüsse bei Diabetikern als bei Nichtdiabetikern fanden. Die grosse Neigung besonders zu arteriellen Thrombosen (Extremitätenverschlüsse, Infarkthäufigkeit) einerseits und eine potentielle Blutungsbereitschaft, (erhöhter Blutdruck, vis a tergo) erhöhte Gefässfragilität und -permeabilität amdererseits machen die "Doppeldiathese des Diabetes mellitus zu Thromboembolien und in geringerem Umfang zu Blutungen" aus (R.MARX).
Die vaskuläre Komponente ist in den letzten Jahren einigermassen klar geworden. Die Mehrzahl der Autoren vertritt heute die Anschauung, dass die Arteriosklerose eine primäre Erkrankung der Gefässwand ist, in die dann sekundär Bestandteile aus dem Blut eingelagert werden (BENEKE, HOFF). Die hämatogene Komponente in der Pathogenese der Arteriosklerose bedarf je doch noch einer weiteren Analyse und Erhellung.
Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, aus hämostaseologischer Sicht Ursachen einer erhöhten <u>thrombotischen</u> Aktivität anzuzeigen, wobei wir speziell

die Relation, der im plättchenfreien, im plättchenhaltigen und im durchavtivierten Plasma vorhandenen Thrombineinheiten studierten. (Die im plättchenfreien recalzifizierten Plasma gebildeten Thrombineinheiten sind in gewissen Grenzen ein Maß einerseits gerinnungsbegünstigender Fettsäuren, andererseits dem Thrombozytenfaktor 3 analog wirksamer Phospholipoide, soweit beide nicht insgesamt von hemmenden Plasmasubstanzen überspielt werden (R.MARX).

Im Jahre 1953 beschrieben MAC FARLANE und BIGGS, sowie PITNEY und DACIE erstmals eine Möglichkeit, in das Geschehen der Thrombinbildung Einblick zu nehmen. 1964 beschrieb VON KAULLA nochmals ausführlich die Methodik dieses Thrombin-Generation-Tests (TGT) und seine Empfindlichkeit. Dieser Test, in einer Modifikation nach R.MARX, schien für unsere Untersuchungen geeignet zu sein, weil er 1. die gesamte Aktivität der 1. und 2. Phase der Blutgerinnung wiederspiegelt, 2. unabhängig vom jeweiligen Fibrinogenspiegel ist und 3. die Thrombingeneration im recalzifizierten Plasma in gewissen Grenzen die Neigung zu Thromboembolien anzuzeigen scheint.

METHODIK UND VERFAHREN

1. Hämatokrit

Den Hämatokrit bestimmten wir aus Citratblut (Natr. citr. 3,28% 1 ad 1o) im Hämatokritröhrchen nach 1o Minuten zentrifugieren bei 5ooo U/min. Um der Verdünnung gerecht zu werden, zählten wir dem abgelesenen Wert 2o% dazu (Eine geringe Fehlerquelle stellt dabei die Quellung der Erythrozyten dar.)

2. Thrombozytenzählung

In einer Leukopipette wurde Citratblut (Natr. citr. 3,28% 1 ad 1o) bis zur Marke 5, anschließend 2%ige Novocainlösung bis zur Marke 11 aufgezogen und ca. 5 min. geschüttelt. Nach Eintritt der Hämolyse füllten wir eine Neubauer-Zählkammer und stellten sie für 1o min. in eine feuchte Kammer (2 Petrischalen mit angefeuchtetem Filterpapier) um die Thrombozyten sedimentieren zu lassen. Unter dem Mikroskop zählten wir 5 Felder à 16 Einzelfelder aus, multiziplierten mit 12oo und erhielten damit die Zahl der Thrombozyten pro ccm.

3. Thrombokinasezeit nach Quick in der Modifikation nach Marx-Bayerle.

Im Wasserbad von 37° C gaben wir zu o,1 ml Citratplasma o,2 ml eines Gemisches aus 1/1o mol $CaCl_2$

und Thombokinase im Verhältnis 1:1. Die Zeit von der Zugabe des Gemisches bis zum Gerinnungseintritt wurde gestoppt.

Um eine Bezugskurve zu bekommen untersuchten wir verschiedene Normalpersonen. Es wurden jeweils verschiedene Plasmaverdünnungen mit phys. NaCl-Lösung angesetzt und ausgetestet. Die Mittelwerte sind in Abb.1 eingetragen.

4. Thrombin-Generation-Test (TGT) im thrombozytenhaltigen Plsama in einer Modifikation nach R. MARX.

Thrombozytenhaltiges Plasma erhielten wir, indem wir Citratblut 1o min. bei 15oo U/min. zentrifugierten. Die Einstellung auf eine bestimmte Thrombozytenzahl erreichten wir durch Zusatz thrombozytenfreien Plasmas der gleichen Person. o,5 ml des gewonnenen Plasmas verdünnten wir mit 2 ml o,9%ig NaCl-Lösung, recalzifizierten mit o,5 ml einer 1/4o mol $CaCl_2$ -Lösung, schüttelten kurz und gaben das Reagenzglas in ein Wasserbad von 37° C. Beim ersten Auftreten von Gerinnungsfäden setzten wir eine Uhr in Gang um exakt von nun an alle 2 Minuten o,2 ml des angeronnen Plasmas zu einer in einem Mikroreagenzglas im Wasserbad von 37° C vorgewärmten o,6%igen Fibrinlösung zu geben. (Als Fibrinlösung benützten wir Rinderfibrinogen Behring, indem wir 6o mg lyophil getrocknetes Fibrin in 1o ml phys.

NaCl-Lösung auflösten und jeweils o,2 ml in Mikroreagenzgläser pipettierten).
Der kürzeste Zeitwert (= höchste Thrombinaktivität) wurde dann in einer Eichkurve verglichen.

5. TGT im thrombozytenfreien Plasma.

Thrombozytenfreies Plasma erhielten wir, indem wir das Citratblut 3o min. lang bei 5ooo U/min. zentrifugierten, den Überstand abpipettierten und nochmals 2o min. bei 5ooo U/min. zentrifugierten. Weitere Durchführung wie im thrombozytenhaltigen Plasma.

6. Eichkurve.

Die Eichkurve erhielten wir durch Bestimmung der Gerinnungszeiten von Thrombin (Behringwerke) verschiedener Konzentration mit o,6%iger Fibrinogenlösung.
Wir stellten eine Konzentrationsreihe von 2o Einheiten Thrombin pro ml (ET) bis o,6 ET pro ml her (Verdünnung durch Ringerlösung und Veronalpuffer 7,6 im Verhältnis 9 : 1). Wir testeten verschiedene Thrombinpräparate und Fibrinogenlösungen und zeichneten die gefundenen Mittelwerte als Kurve auf (Abb.2).
Berechnung der Thrombineinheiten:
ET/ml Plasma: Die in der Kurve gefundenen Thrombineinheiten (x) sind in 1/3o ml Plasma enthalten. 1 ml Plasma entsprechen also

$$3o\ x = a\ ET/ml$$

ET/ml Vollblut: Bei einer Citratverdünnung von 1 ad 1o liegen 9 ml Vollblut vor. Davon entfallen auf reines Plasma

$$\frac{9\ (1oo - \text{Hämatokrit})}{1oo}\ \text{ml}$$

In 1 ml Plasma liegen a ET/ml vor in 9 ml Blut liegen dann

$$\frac{9\ (1oo - \text{Hämatokrit})\ a}{1oo}\ \text{ET/ml}$$

und in 1 ml Blut der 9. Teil davon vor

$$\frac{9\ (1oo - \text{Hämatokrit})\ a}{1oo \times 9} = \frac{(1oo - \text{Hämatokrit})\ a}{1oo}\ \text{ET/ml.}$$

7. TGT im durchaktivierten Plasma.

Nach mehreren Vorversuchen zur Aktivierung des Plasmas mit Tachostyptan® (Hormon-Chemie München), Thrombokinase, Ellagsäure, Intralipid®, Lipofundin®, Stearinsäure, Kaolin und verschiedenen Kombinationen kamen wir zu dem Ergebnis, dass nur mit Tachostyptan eine optimale Aktivierung zu erreichen war.

Bei der Durchaktivierung des Plasmas setzten wir deshalb dem Plasma im Ansatz verschiedene Konzentrationen von Tachostyptan als Thrombozytenfaktor-3-Ersatz zu. (Verdünnung mit o,9%iger NaCl-Lösung.) Es zeigte sich, dass 1/5oo bzw. 1/1ooo ml Tachostytan pro Ansatz (das entspricht 4 Gamma bzw. 2 Gamma des gerinnungsaktiven Phospholipoidkomplexes pro ml Plasma) die höchste Aktivierung bei den einzelnen Messungen ergaben, während

grössere Mengen eine Hemmung hervorriefen (DEUTSCH).

8. Stypven-Test.

Aus Russel-Viper-Gift stellten wir mit Aqua dest. eine Lösung von 1:1oo ooo her. Im Wasserbad von 37° C gaben wir zu o,1 ml dieser Lösung o,1 ml Plasma zu und recalzifizierten mit o,1 ml 1/4o mol $CaCl_2$ -Lösung. Die Zeit von der Zugabe der $CaCl_2$-Lösung bis zur Gerinnung stoppten wir.

VORUNTERSUCHUNGEN

A Versuche am Schwein (mini pig).

1. TGT Normalwerte
2. TGT nach Injektion von Lipotropin
3. Stypven-Zeit

Lipotropin ist in der Lage beim Schwein eine diabetische Stoffwechsellage (Insulinmangeldiabetes) hervorzurufen) (WEISWEILER). Bei seiner Applikation erhöht sich in charakteristischerweise der Spiegel der Freien Fettsäuren (FFS) und des Glycerins, während die Glucosewerte ansteigen als auch abfallen können.
Da die FFS als gerinnungsaktive Substanzen bekannt sind (siehe Diskussion), war es interessant zu sehen, ob sich auch eine Zunahme der Thrombinaktivität testmässig erfassen ließe.
Wir entnahmen den Schweinen (mini pigs) vor und 1 Std. nach Injektion von loo Gamma Lipotropin pro kg Körpergewicht Blut und bestimmten Stypven-Zeit sowie die Thrombineinheiten.
Ergebnisse: Bei allen 6 getesteten Schweinen stiegen die FFS um das 2-lofache post inj. an, die Glycerinwerte sogar um das 2 - 19fache. Bei 4 Schweinen konnte ein Abfall der Blutglucosewerte zwischen lo% und fast 7o% beobachtet werden, bei 2 Schweinen stiegen die Glucosewerte um 4o% bzw. 7o% an

Insgesamt gesehen ergab sich im Stypven-Test eine Verkürzung der Gerinnungszeit, in Analogie dazu stiegen die Thrombineinheiten sowohl im thrombozytenreichen wie auch im thrombozytenfreien Plasma deutlich an. Da wieder Glycerin noch Glucose Einfluß auf die Gerinnung nehmen, könnte man die FFS für den Anstieg verantwortlich machen, was einer sekundären Wirkung des Lipotropins entspräche. (Eine primäre Beinflussung der Blutgerinnung durch Lipotropin konnte durch in vitro Versuche ausgeschlossen werden.)

(Tab. S. 11; Abb. 3,4)

Injektion von Lipotropin

	Gew (kg)	FFS (mval/l) vor	FFS (mval/l) nach	Glycerin (mMol/l) vor	Glycerin (mMol/l) nach	Glucose (mg%) vor	Glucose (mg%) nach		Stypven (sec) vor	Stypven (sec) nach	TGT (ET/mlBl) vor	TGT (ET/mlBl) nach	Hkt
Schwein I	86,9	o,37	2,92	o,o61	o,488	55	48	4ooooo Thr	26,o	25,2	4o,o	67,9	42
								Thr.frei	3o,3	25,7	15,o	22,6	
Schwein II	67,5	o,63	2,89	o,o46	o,317	2o	28	4ooooo Thr	24,1	25,8	47,5	41,o	28
								Thr.frei	33,7	36,2	16,6	19,8	
Schwein III	8o,2	o,46	2,77	o,o59	o,359	63	45	4ooooo Thr	24,1	24,1	35,1	58,5	22
								Thr.frei	33,7	31,9	17,6	18,3	
Schwein IV	1o3,6	o,25	2,55	o,o27	o,529	65	53	4ooooo Thr	27,7	22,o	37,8	56,7	3o
								Thr.frei	36,9	24,4	15,8	2o,8	
Schwein V	19,2	o.33	o,78	o,o42	o,288	1o5	7o	4ooooo Thr	23,2	22,5	34,7	36,7	32
								Thr.frei	27,8	27,1	17,3	19,o	
Schwein VI	25,o	o,31	o,72	o,o4o	o,o95	6o	1o5	4ooooo Thr	23,3	23,4	32,3	43,7	3o
								Thr.frei	31,3	3o,1	16,9	16,9	

B Versuche am Kaninchen.

1. TGT Normalwerte (Tab. S. 15)
2. TGT nach Injektion von Tachostyptan i. v.
3. TGT nach Injektion von Butterfiltrat i.v.
4. TGT nach Injektion von gewaschenen und mehrmals gefrorenen Kaninchenthrombozyten.

(Alle Versuche mit Kaninchen wurden mit einer Citratverdünnung von 1 ad 5 durchgeführt. Zur Recalzifizierung verwendeten wir 1%ige $CaCl_2$ - Lösung.)

Wir versuchten die in Vitro erwiesene Aktivierung des Plasmas durch Tachostyptan im Tierexperiment nachzuvollziehen.

Zuerst bestimmten wir die Thrombin-Normalwerte im thrombozytenfreien Plasma und im Plasma mit 3oo ooo Thrombozyten/ccm. Dabei ergab sich im thrombozytenhaltigen Plasma ein Durchschnittswert von 29 ET, und im thrombozytenfreien Plasma ein Wert der unter 15,6 ET lag.

Dann injizierten wir 3 verschiedenen Kaninchen 1/2 Ampulle Tachostyptan i.v. (2,5 ml) und einem weiteren Kaninchen 1 Ampulle Tachostyptan. 5,15, 3o, 6o und 12o min. post inj. nahmen wir Testblut ab.

Ergebnisse: Sowohl im thrombozytenfreien wie auch im thrombozytenreichen Plasma zeigte bereits der 5 min.Wert den maximalen Anstieg. Dieser Anstieg ging schnell wieder zurück und erreichte spätestens nach 12o min.

wieder den Ausgangswert. Dabei war der Effekt im thrombozytenfreien Plasma mit 3-fachem, 6-, 8- und 9-fachem Anstieg wesentlich höher als im thrombozytenhaltigen Plasma von 3oo ooo Thrombozyten, wo er nur das 2 - 3-fache des Leerwertes betrug. (Tab.S. 16; Abb.5,6)

Da aus der Literatur die Gerinnungsaktivität der natürlichen Butter in vitro bekannt ist (DENICOLA, MAC LAGAN) , versuchten wir durch Injektion einer Butterlösung eine Aktivität auch in vivo nachzuweisen.
Wir lösten dabei looo mg Butter in 2o ml NaCl-Lösung im Wasserbad bei 37° C und filtrierten mit einem Faltenfilter. Das Filtrat (582 mg) injizierten wir einem Kaninchen i.v. und entnahmen nach 5,15, 3o, 6o und 12o min. Testblut. (Tab. S. 17; Abb. 7)
Ergebnisse: Es zeigte sich im Plasma von 3oo ooo Thrombozyten sofort ein merklicher Anstieg der Thrombineinheiten, der nach 15 min. mit etwa 6o% über dem Ausgangswert das Maximum hatte. Nach 12o min. war der Leerwert wieder erreicht.
Auch im thrombozytenfreien Plasma lag das Maximum beim 15 min.Wert mit einem 4o%igen Anstieg, doch lässt der niedrige Ausgangswert keine differenzierte Aussage zu.

An 2 Kaninchen, denen wir schon Tachostyptan injiziert hatten, ersetzten wir den "künstlichen" Thrombozyten-

faktor 3 durch den "natürlichen", indem wir diesen beiden Kaninchen Blut entnahmen, die Thrombozyten abzentrifugierten, zweimal wuschen und viermal tieffroren, um dann die zerstörten Thrombozyten als NaCl-Suspension den jeweiligen Tieren zu injizieren.

Ergebnisse: Es zeigte sich in beiden Fällen im thrombozytenhaltigen Plasma ein Anstieg der Thrombineinheiten, der beim 15 min.Wert am höchsten war und nach 6o min. noch leicht über dem Leerwert war.

Im thrombozytenfreien Plasma war nach Injektion der zerstörten Thrombozyten - infolge des niedrigen Ausgangswertes - kein meßbarer Effekt zu erkennen.

(Tab. S. 17; Abb.8)

Kaninchen Normalwerte

	Hkt	TGT 3ooooo Thr.	TGT thrombozytenfrei
Kaninchen Nr. 1	32	14,3	13,3
Kaninchen Nr. 2	34	45,5	14,5
Kaninchen Nr. 3	35	19,1	14,6
Kaninchen Nr. 4	36	18,1	14,4
Kaninchen Nr. 5	34	39,6	16,4
Kaninchen Nr. 6	3o	39,9	2o,8
Kaninchen Nr. 7	24	21,7	17,1
Kaninchen Nr. 8	35	25,4	14,6
Kaninchen Nr. 9	29	4o,4	14,3
Kaninchen Nr.10	28	25,9	16,1

Injektionen von Tachostyptan bei Kaninchen

Kaninchen Nr 5 (1/2 Amp.Tachost)	Leerwert	5' p.i.	15' p.i.	3o' p.i.	6o' p.i.
3oo ooo Thr	39,6	122,8	1o8,9	53,5	43,6
Thr. frei	16,4	14o,5	81,2	35,6	17,1
Kaninchen Nr 2 (1/2 Amp.Tachost)					
3oo ooo Thr	45,5	1o3,o	45,2	37,6	-
Thr. frei	14,5	1o8,9	14,5	14,5	14,5
Kaninchen Nr 1 (1/2 Amp. Tachost)					
3oo ooo Thr	14,3	4o,8	32,6	16,7	13,3
Thr frei	13,3	44,9	13,3	13,3	13,3
Kaninchen Nr 5 (1 Amp.Tachost)					
3oo ooo Thr	36,7	93,8	79,o	46,2	38,3
Thr. frei	16,4	9o,2	15,5	16,2	16,2

Injektion von Butter,

Injektion von eigenen gewaschenen und tiefgefrorenen Thrombozyten bei Kaninchen

Kaninchen Nr 9 (Butter)	LW	5'p.i.	15'p.i.	3o'p.i.	6o'p.i.	12o'p.i.
3oo ooo Thr	39,6	5o,5	65,3	59,1	49,5	38,9
Thr.frei	14,2	14,2	2o,o	14,2	14,2	14,2
Kaninchen Nr 2 (eigene Thr)						
3oo ooo Thr	46,9	71,4	1oo,o	53,o	49,o	-
Thr. frei	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	-
Kaninchen Nr 5 (eigene Thr)						
3oo ooo Thr	49,5	63,4	73,8	62,5	51,5	44,8
Thr. frei	16,2	16,2	15,9	16,4	16,o	16,3

C Injektion von Tachostyptan i.v. bei 2 Personen.

Wir injizierten 2 Personen 5 bzw. 1o ml Tachostyptan i.v. und bestimmten im TGT die Thrombinwerte nach 1O, 6o und 24o Minuten.

Ergebnisse: In beiden Fällen konnte im thrombozytenfreien Plasma ein Anstieg von 2o bzw. 21 Thrombineinheiten festgestellt werden. Dieser Anstieg war schon nach 1o min. erreicht; nach 4 Std. war wieder der Ausgangswert erreicht, bzw. beträchtlich unterschritten. Im durchaktivierten wie auch im thrombozytenreichen Plasma von 3oo ooo Thrombozyten waren die Unterschiede nur minimal, so daß die Schwankungen wohl innerhalb der Fehlergrenze lagen und keine Aussage zulassen. (Tab. S. 2o; Abb. 9)

Beachtenswert ist, daß die doppelte Tachostyptanmenge (1o ml) keinen höheren Anstieg der Thrombineinheiten zur Folge hatte. Dies könnte daran liegen, daß schon mit 5 ml im in vivo System der obere "Interventionspunkt" erreicht ist und eine höhere Dosierung von Tachostyptan mit der damit verbundenen Zunahme gerinnungsfördernder Substanzen eine empfindliche Störung des Gerinnungsgleichgewichts zur Folge hätte. Aus diesem Grund könnten Inhibitoren aktiviert werden, die die Balance aufrecht erhalten.

Daß dieses System - sollte es ein solches geben - in vitro nicht mehr funktioniert wird dadurch bewiesen,

daß eine Durchaktivierung des Plasmas mit Tachostyptan ohne weiteres möglich ist, wie unsere Untersuchungen zeigen.

Injektion von Tachostyptan i.v. bei 2 Personen

1. Ort (5 ml Tachost. i.v.)
   Quick loo%
   Hkt 44

2. Ton (lo ml Tachost.i.v.)
   Quick loo%
   Hkt 42

TGT	Thr.frei	durchakt.	3ooooo Thr	Thr.frei	durchakt.	3ooooo Thr
Leerwert	47,o	151,2	9o,7	4o,o	224,3	lo2,7
lo'p.i.	67,2	152,9	94,1	61,2	223,6	lo4,4
6o'p.i.	4o,3	146,4	89,o	43,5	225,o	lo5,2
24o'p.i.	32,o	158,3	87,4	38,3	228,4	lo6,1

D Zufuhr phosphatidreicher Nahrung bei 2 Personen.

Wir ließen 2 Personen auf nüchternen Magen 1oo g Butter essen bzw, o,2 l Süßrahm trinken und bestimmten vorher und 3o, 6o und 18o min. nach der Mahlzeit die Thrombineinheiten im thrombozytenfreien und im durchaktivierten Plasma.

Ergebnisse: Entsprechen den Untersuchungen von MAC LAGAN konnte - trotz starker Trübung des Plasmas - 3 Std. nach Zufuhr von phosphatidreicher Nahrung kein Effekt auf die Thrombinbildung nachgewiesen werden. Weder im thrombozytenfreien noch im durchaktivierten Plasma kam es zu einem Anstieg der Thrombineinheiten.

(Tab. S. 22)

Zufuhr phosphatidreicher Nahrung bei 2 Personen

1. Don (loo g Butter)
Quick loo% Hkt 4o

2. Ari (o,2 l Süßrahm)
Quick loo% Hkt 44

	Thr.frei	durchakt.	Thr.frei	durchakt.
Leerwert	28,3	246,o	34,2	2oo,1
3o'postpr.	-	-	33,o	2o3,6
6o'postpr.	3o,6	253,1	35,6	197,4
18o'postpr.	25,1	244,9	37,7	198,9

EXMERIMENTELLE ERGEBNISSE

Zuerst bestimmten wir bei insgesamt 6o gesunden Personen verschiedenen Alters und Geschlechts die im Plasma vorhandenen Thrombineinheiten (ET). Voraussetzung war ein Quickwert zwischen 75% und loo%. Bei jeder Person wurden 3 Werte ermittelt: die Thrombineinheiten im thrombozytenfreien Plasma, im thrombozytenhaltigen Plasma von 15o ooo Thrombozyten und im thrombozytenfreien, mit Tachostyptan durchaktiviertem Plasma.
Um alimentär bedingte Faktoren zu berücksichtigen wurden 2 Gruppen gebildet:
- Personen, denen im nüchternen Zustand (mindestens 8 Stunden nichts gegessen) Testblut abgenommen wurde,
- Personen, die vor der Blutentnahme gefrühstückt hatten.
Dabei ergab sich im thrombozytenfreien Plasma von Nüchternpersonen ein Durchschnittswert von 43,2 ET/ml Vollblut bei einer Schwankungsbreite von minimal 13,5 ET bis maximal 85,o ET (Alle Angaben sind auf ml Vollblut bezogen!) (Tab. S. 25,26)
Im durchaktivierten Plasma ergab sich bei der gleichen Gruppe ein Durchschnittswert von 224,1 ET mit einer Schwankungsbreite von 158,o bis 374,7 ET. (Tab. S.25,26)
Die Werte im thrombozytenhaltigen Plasma (15o ooo Thrombozyten) lagen im Durchschnitt bei 93,1 ET, wobei der niedrigste Wert 61,6, der höchste 165,6 ET betrug. (Tab. S. 25,26)

Bei der 2. Gruppe (Postprandialplasmen) ergab sich im thrombozytenfreien Plasma ein Durchschnittswert von 61,7 ET, Minimalwert 32,4 , Maximalwert 118,8 (Tab.S. 27,28). Der Durchschnittswert im Plasma, das mit Tachostyptan durchaktiviert war, lag bei 23o,5 ET. Der niedrigste Wert betrug 121,5 ET, der höchste 397,4 ET (Tab.S. 27,28). Im thrombozytenhaltigen Plasma (15o ooo Thrombozyten) fanden wir einen Durschschnittswert von 94,4 ET mit einer Schwankungsbreite von 54,o bis 122,4 ET (Tab.S. 27,28). (Siehe auch Verteilungsmuster der Normalpersonen Abb.1o,11,12). In den letzten beiden Spalten der Tabellen finden Sie zwei Indices, die die im durchaktivierten Plasma und im thrombozytenhaltigen Plasma (15o ooo Thrombozyten) gebildeten Thrombineinheiten in Beziehung bringen zu den im thrombozytenfreien Plasma gebildeten Thrombineinheiten:

$$Iv = \frac{\text{Gesamtakt.im durchakt.Plasma (E/ml Vollblut)}}{\text{Akt. im thrombozytenfreien Pl. (E/ml Vollbl)}}$$

$$It = \frac{\text{Gesamtakt. im Pl.v. 15oooo Thr. (E/ml Vollblut)}}{\text{Akt. im thrombozytenfreien Pl. (E/ml Vollblut)}}$$

Ergebnisse bei Normalpersonen - Nüchternwerte

Name	Quick	Hkt	Thr.frei	TGT durchakt.	15o ooo Thr	
1. Wol	loo	4o	36,3	163,8	lo4,4	
2. Bri	loo	38	13,5	243,1	83,7	
3. Ton	8o	48	21,6	158,o	67,o	
4. Pet	loo	45	85,o	184,o	lo5,8	
5. Joc	loo	42	58,1	231,8	loo,8	
6. Duf	loo	46	67,6	253,8	125,6	Iv = 4,6
7. Hil	loo	46	34,9	218,7	lo8,3	
8. Hub	9o	36	62,7	189,3	73,8	It = 2,1
9. Sch	75	4o	25,1	176,o	97,5	
lo. And	loo	38	38,4	333,o	lo3,8	
11. Hau	loo	36	28,9	374,o	88,2	
12. Mai	loo	42	27,6	234,9	96,3	
13. Erd	loo	42	75,4	245,o	88,2	
14. Hol	95	48	22,2	199,7	69,7	
15. Bad	loo	4o	3o,9	166,9'	89,3	

Ergebnisse bei Normalpersonen - Nüchternwerte

Nama	Quick	Hkt	TGT		
			Thr.frei	durchakt.	15o ooo Thr
16. Mun	loo	4o	4o,4	244,4	115,o
17. Par	loo	35	4o,8	171,o	81,3
18. Bei	8o	45	19,4	2ol,o	91,3
19. Anz	loo	42	59,4	19o,8	lo6,9
2o. Wal	9o	5o	23,o	325,8	111,8
21. Bac	75	4o	25,4	228,4	93,8
22. May	loo	36	34,2	217,1	61,6
23. Sto	loo	42	62,6	178,2	93,6
24. Ste	loo	42	65,o	2ol,6	89,o
25. Mul	loo	44	51,6	188,2	72,2
26. Zor	loo	5o	5o,5	193,2	85,7
27. Sta	loo	38	35,6	244,8	97,2
28. Mil	8o	4o	31,9	179,8	8o,2
29.Uns	95	44	28,8	345,5	lo4,8
3o. Mie	loo	42	55,4	235,8	lo9,8

Ergebnisse bei Normalpersonen - Postprandialwerte

Name	Quick	Hkt	Thr.frei	TGT durchakt.	15o ooo Thr	
1. Kar	9o	53	52,2	244,8	93,4	
2. Wen	loo	46	45,o	136,5	57,o	
3. Ott	loo	38	69,7	2o7,5	95,1	
4. Bla	loo	4o	1o6,2	333,o	12o,9	
5. Dro	loo	42	56,7	397,4	1o8,7	
6. Kne	loo	45	85,1	296,6	1oo,7	Iv = 3,7
7. Hin	loo	5o	91,8	36o,o	98,3	
8. Dud	loo	45	87,3	197,6	98,2	It = 1,5
9. Kub	95	42	75,6	26o,1	78,4	
1o. Wer	loo	4o	118,8	297,o	87,8	
11. Wei	loo	4o	54,6	195,o	97,5	
12. Mas	loo	44	85,5	121,5	1o5,o	
13. Mül	loo	45	86,4	217,8	122,4	
14. Hna	85	38	45,o	145,8	61,2	
15. Sol	loo	4o	95,7	261,1	1o9,7	

Ergebnisse bei Normalpersonen - Postprandialwerte

Name	Quick	Hkt	Thr.frei	TGT durchakt.	15o ooo Thr
16. Meu	loo	44	39,6	257,o	54,o
17. Gab	loo	44	32,4	28o,8	81,o
18. Fra	loo	4o	65,1	215,8	117,2
19. Kil	75	38	33,6	142,5	75,6
2o. Sne	loo	55	43,7	179,8	84,2
21. Ces	loo	46	81,o	277,o	113,4
22. Tla	loo	4o	4o,6	187,2	9o,5
23. Gap	loo	42	47,o	142,7	87,o
24. Eic	loo	38	4o,3	31o,8	89,o
25. Her	8o	4o	38,3	265,3	1o9,3
26. Gac	loo	42	51,5	154,4	1o8,9
27. Zon	loo	42	46,8	216,o	1o8,o
28. Aic	loo	46	43,2	23o,4	1o8,o
29. Str	9o	4o	43,7	193,2	7o,6
3o. Bis	loo	42	59.4	19o,8	111,6

Untersuchungen an Personen mit Diabetes mellitus.

Wir untersuchten ein nichtausgewähltes Krankengut von 62 Patienten. Die Blutentnahme für die Testung erfolgte morgens vor dem Frühstück und vor der Verabreichung von Medikamenten, also auch vor der Injektion von Insulin. Das Blut wurde spätestens 1 Std. nach Entnahme durchgetestet.

Zur besseren Übersicht teilten wir die Patienten in 2 Gruppen ein: Diabetiker ohne Hyperlipidämie (Cholesterin unter 25o mg%; Gesamtlipide unter looo mg%; Triglyceride unter 14o mg%), Diabetiker mit Hyperlipidämie, bei denen mindestens einer der genannten Werte pathologisch war.

Diese beiden Hauptgruppen unterteilten wir nochmals in je eine Gruppe von Patienten, deren Diabetes mit Tabletten zu beeinflussen war und in eine Gruppe von Patienten, die täglich Insulininjektionen brauchten.

(In den Tabellen stehen unter den Namen die pathologischen Fettwerte: Cholesterin, Gesamtlipide, Triglyceride jeweils in mg%)

Diabetiker ohne Hyperlipidämie - Diabetes mit Tabletten eingestellt.

Im thrombozytenfreien Plasma ergab sich ein Durchschnittswert von 57,3 ET, im vollaktivierten Plasma ein Wert 199,1 ET und im plättchenreichen Plasma von 15o ooo Thrombozyten 9o,9 ET.
Der Iv lag bei 3,5 , der It bei 1,3.
(Tab.S. 31,32,33)

Diabetiker ohne Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei	vollakt. TGT	15oooo	vollakt. / Thr.frei = Iv	15oooo Thr / Thr.frei = It	Medikamente
1. Stro	68	loo	4o	5o,3	172,8	82,8	3,5	1,7	3 Euglucon 5 2 Silubin ret.
2. Pika	69	loo	44	58,3	213,4	74,4	3,6	1,3	Diät
3. Goll	4o	6o	44	99,o	232,2	147,6	2,4	1,5	3 Euglucon 3 Hb 6139
4. Rein	39	7o	4o	64,8	165,6	93,6	2,6	1,5	2 Euglucon 1 Euglucon
5. Gast	59	loo	38	51,3	186,4	67,3	3,7	1,3	2 Rastinon o,5 1 Rastinon o,5
6. Fuch	14	65	33	62,4	189,2	68,3	3,o	1,1	Diät
7. Reic	7o	75	38	54,6	185,3	lo7,3	3,4	1,8	3 Euglucon

Diabetiker ohne Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei	vollakt.	15oooo Thr	Iv.	It	Medikamente
8. Kuge	63	6o	33	58,3	221,1	1o7,3	3,7	1,8	3 Euglucon 4 Silubin ret.
9. Spät	68	8o	38	6o,3	281,4	12o,6	4,7	2,1	2 Euglucon 5 3 Silubin ret.
1o. Ette	7o	65	4o	54,6	193,1	54,6	3,5	1,o	3 Euglucon 5 2 Silubin ret.
11. Kall	58	75	44	51,2	226,o	79,2	4,4	2,2	3 Euglucon 5 1 Silubin ret.
12. Scer	51	1oo	5o	66,3	224,4	1o3,4	3,4	1,6	2 Rastinon o,5 1 Rastinon o,5
13. Küje	45	1oo	46	6o,9	177,5	114,8	2,9	1,9	Diät
14. Stei	5o	9o	4o	53,8	172,8	94,8	3,2	1,8	Diät

Diabetiker ohne Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei	vollakt.	150000 Thr	Iv	It	Medikamente
15. Hhrub	69	75	38	48,7	174,o	59,2	3,5	1,2	Diät
16. Fisc	73	8o	35	52,1	152,5	78,2	2,9	1,5	3 Euglucon 4 Silubin ret.
17. Pirk	45	1oo	42	58,o	2o3,4	75,9	3,1	1,3	3 Hb 6139
18. Bend	53	1oo	44	39,1	279,o	68,4	6,9	1,7	Diät
19. Mayr	51	75	38	49,7	19o,1	76,8	3,8	1,5	3 Euglucon 5 1 Euglucon 5
2o. Fise	63	95	4o	52,1	152,5	78,2	2,9	1,5	Diät

Diabetiker ohne Hyperlipidämie - Diabetes mit Insulin eingestellt.

Der Durchschnittswert im thrombozytenfreien Plasma betrug 59,o ET, im durchaktivierten Plasma 189,6 ET, im Plasma von 15o ooo Thrombozyten 79,7 ET.
Der Iv lag bei 3,2 , der It bei 1,3.
(Tab. S. 35,36)

Diabetiker ohne Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei	vollakt.	15oooo Thr	Iv	It	Medikamente
1. Müll	64	95	33	42,2	199,8	63,o	4,6	1,4	16 Dep.Hoe 8 Dep.Hoe
2. Seba	21	55	46	61,6	155,5	12o,3	2,2	2,o	16 Dep.Hoe
3. Nuss	56	75	38	78,3	156,6	8o,8	2,o	1,o	2o Actrapid 2o Actrapid
4. Ford	32	loo	4o	52,2	18o,o	97,2	3,4	1,9	12 Alt Hoe 8 Alt Hoe 12 Dep.Hoe
5. Hoch	62	85	35	6o,3	227,2	8o,4	3,8	1,3	12 Dep.Hoe
6. Mose	78	6o	42	46,2	178,9	76,4	3,9	1,7	16 Komb
7. Janc	77	loo	4o	5o,4	216,o	72,o	4,3	1,4	16 Dep,Hoe 12 Dep.Hoe

Diabetiker ohne Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei vd Lakt.		15oooo Thr	Iv	It	Medikamente
8. Mart	62	loo	42	55,8	172,8	64,8	3,2	1,2	44 Dep.Hoe 16 Dep.Hoe
9. Ceng	58	6o	4o	62,4	257,4	74,1	4,1	1,2	16 Dep.Hoe 8 Dep.Hoe
lo. Scha	27	65	42	68,4	181,o	75,6	2,1	1,1	2o Alt Hoe 2o Alt Hoe
ll. Baum	5o	loo	5o	45,8	17o,3	61,3	5,7	1,3	16 Dep.Hoe 12 Dep.Hoe
12. Keck	36	7o	44	63,o	179,o	9o,o	2,9	1,4	16 Dep.Hoe

Diabetiker mit Hyperlipidämie - Diabetes mit Tabletten eingestellt.

In dieser Gruppe ergab sich ein Durschschnittswert von 54,9 ET im thrombozytenfreien Plasma, von 2o7,7 ET im durchaktivierten Plasma und von 82,1 ET im Plasma von 15o ooo Thrombozyten.
Der Iv lag bei 3,8 , der It bei 1,5.
(Tab. S. 38,39)

Diabetiker mit Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei	vollakt.	15oooo Thr	Iv	It	Medikamente
1. Lieh 291/968	69	9o	35	48,9	2o3,3	89,o	4,1	1,8	3 Euglucon 5 4 Silubin ret.
2. Eckb 485/1893	36	6o	4o	5o,4	183,6	61,2	3,7	1,2	Diät
3. Wich 293/897	97	75	4o	69,6	157,3	97,4	2,8	1,3	3 Euglucon 5 3 Hb 6139
4. Übel 31o/861	51	7o	32	46,8	183,6	84,6	4,o	1,9	2 Euglucon 5 1 Euglucon 5
5. Bade 287/787	48	loo	4o	39,6	171,o	81,o	4,3	2,3	1/2 Euglucon 5
6. Köni 324/1192	62	loo	44	48,6	2o8,8	14o,o	4,5	2,8	Diät
7. Wild 28o/1o32	68	9o	4o	53,8	142,8	89,o	2,7	1,5	Diät
8. Mülf 243/12o3	6o	loo	4o	42,5	243,o	63,3	5,6	1,5	3 Euglucon 5

Diabetiker mit Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei	vollakt.	15oooo Thr	Iv	It	Medikamente
9. Dane 18o/77o/265	58	6o	35	38,3	172,3	9o,8	4,5	2,4	3 Euglucon 5 1 Euglucon 5
1o. Heut 193/87o/287	54	8o	4o	36,7	287,6	78,7	7,7	2,1	2 Euglucon 5
11. Naum 232/1438	71	1oo	4o	93,o	241,8	89,3	2,6	1,o	3 Euglucon 5
12. Math 991/137o	62	1oo	38	52,2	261,o	9o,o	5,o	1,7	3 Euglucon 5 4 Silubin ret.
13. Jung 27o/1185	57	55	33	1o2,7	261,o	135,7	2,5	1,3	3 Hb 6139
14. Baie 327/922	53	1oo	35	39,6	151,2	61,2	3,8	1,5	3 Hb 6139
15. Unbe 267/1283	32	1oo	4o	58,3	247,o	83,8	4,2	1,4	2 Rastinon o,5 1 Rastinon o,5

Diabetiker mit Hyperlipidämie - Diabetes mit Insulin eingestellt.

Im thrombozytenfreien Plasma lag der Durchschnittswert bei 73,3 ET, im vollaktivierten Plasma bei 239,2 ET, im plättchenhaltigen Plasma bei 95,7 ET.
Der Iv betrug 3,3 , der It 1,3.
(Tab.S. 41,42)

Diabetiker mit Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei	vollakt.	15oooo Thr	Iv	It	Medikamente
1. Graf 287/928	72	55	4o	81,o	171,o	77,4	2,1	1,o	28 Komb 8 Dep.Hoe
2. Göss 249/1138	38	95	35	74,8	235,7	89,7	3,1	1,2	28 Actrapit 2o Actrapit
3. Eckh 3o3/1o47	76	6o	42	44,6	26o,o	96,7	5,8	2,2	32 Dep.Hoe 16 Dep.Hoe
4. Schm 213/1o55	16	1oo	42	7o,7	2oo,2	1o7,9	2,8	1,5	4o Komb 24 Dep.Hoe
5. Sohr 168/7o4	58	75	4o	56,7	245,8	89,1	4,3	1,5	12 Dep,Hoe 8 Dep.Hoe
6. März 68o/384o	67	85	42	11o,6	4oo,o	34,5	3,6	o,9	48 Rapitard 24 Rapitard
7. Sing 3o6/1115	26	1oo	4o	69,8	231,3	61,3	3,3	1,o	24 Dep.Hoe
8. Kart 358/1497	56	6o	4o	1o9,8	216,o	14o,4	2,o	1,3	24 Dep.Hoe 3 Hb 6139 2o Dep.Hoe

Diabetiker mit Hyperlipidämie

Name	Alter	Quick	Hkt	Thr.frei	vollakt.	15oooo Thr	Iv	It	Medikamente
9. Bugl 22o/1o4o/472	73	75	3o	52,5	2o5,8	1o9,2	3,9	2,o	16 Alt Hoe 12 Dep.Hoe
1o. Hanu 261/896	28	1oo	42	79,8	195,3	94,o	2,4	1,2	28 Komb 8 Alt Hoe 8 Dep.Hoe
11. Bitt 322/1o82	29	8o	42	83,5	189,3	85,5	2,3	1,o	8 Actrapid 8 Actrapid 12 Actrapid
12. Kell 318/9o4	49	6o	4o	61,2	216,o	7o,2	3,5	1,2	32 Dep.Hoe 16 Dep.Hoe
13. Rien 267/1o98	33	45	38	85,7	26o,4	93,o	3,o	1,1	24.Dep.Hoe 12 Dep.Hoe
14. Schu 327/922	49	85	4o	61,4	133,6	1o9,3	2,2	1,7	16 Dep.Hoe 12 Dep.Hoe
15. Nord 386/1436	26	8o	38	77,2	318,o	1o4,3	4,1	1,3	4o Komb 16 Dep.Hoe

In der untenstehenden Tabelle finden Sie eine Gegenüberstellung der Mittelwerte der verschiedenen getesteten Gruppen mit den jeweiligen Streubreiten.

(Siehe auch Abb. 13,14,15)

		thrombozytenfrei	durchakt.	150000Thr.
nüchtern	min	13,5	158,0	61,6
	MW	43,2	224,1	93,1
	max	85,0	374,7	165,6
postprandial	min	32,4	121,5	54,0
	MW	61,7	230,5	94,4
	max	118,8	397,4	122,4
normolip. mit Tabl.	min	39,1	152.5	54,6
	MW	57,3	199,1	90,9
	max	99,0	281,4	147,6
normolip. mit Insulin	min	39,1	152,5	59,2
	MW	59,0	189,6	79,7
	max	78,3	279,0	120,3
hyperlip. mit Tabl.	min	36,7	142,8	61,2
	MW	54,9	207,7	82,1
	max	102,7	287,6	140,0
hyperlip. mit Insulin	min	44,6	133,6	61,3
	MW	73,3	239,2	95,7
	max	110,6	400,0	140,4

DISKUSSION

Entsprechend früherer Untersuchungen von VON KAULLA, der bei thrombosegefährdeten Patienten allgemein eine Aktivierung der Blutgerinnung feststellte, konnten wir bei Patienten mit Diabetes mellitus, die - wie wir anfangs erwähnten - einem erhöhten Thromboserisiko unterliegen, eine deutliche Zunahme der Thrombinaktivität im recalzifizierten Plasma nachweisen. Wir untersuchten insgesamt 6o gesunde Personen und 62 Diabetiker und bestimmten mit Hilfe des Thrombin-Generation-Tests die im Plasma gebildeten Thrombineinheiten unter 3 verschiedenen Bedingungen: 1. im thrombozytenfreien Plasma, 2. in dem mit Tachostyptan durchaktivierten, thrombozytenfreien Plasma und 3. im thrombozytenhaltigen Plasma von 15o ooo Thrombozyten.

1. Thrombozytenfreies Plasma.
Der im Nüchternblut bestimmte Normalwert lag bei 43,1 ET, der des Postprandialblutes bei 61,7 ET. Da wir bei den Diabetikern im nüchternen Zustand Testblut abnahmen, dient vor allem der erstere Wert zum Vergleich. So fanden wir in der Gruppe Diabetiker ohne Hyperlipidämie - mit Tabletten eingestellt - 57,3 ET eine Zunahme von 14 ET, was etwa

3o% entspricht. Bei insulinpflichtigen Diabetikern derselben Gruppe und bei hyperlipämischen Diabetikern mit Tabletten eingestellt ergaben sich etwa die gleichen Prozentzahlen. Indessen war die Zunahme bei insulinpflichtigen Diabetikern mit Hyperlipidämie mit 73,3 ET um 7o% über dem Normalwert. Damit lag dieser Wert sogar um lo ET über den postprandialen Normalwert.

2. Mit Tachostyptan durchaktiviertes Plasma.
Die Normalwerte im durchaktivierten Plasma betrugen in nüchternem Zustand 224, 1 ET, im postprandialen 23o,5 ET. Bei normolipämischen Patienten und hyperlipämischen mit Tabletten eingestellten Diabetikern lagen die Werte mit 199,1 ET, 189,6 ET und 2o7,7 ET etwa 5 - 15% über dem Vergleichswert. Obwohl auch der Wert bei insulinbedürftigen Diabetikern mit Hyperlipidämie mit 239,2 ET innerhalb dieser Prozentgrenze lag, war es doch interessant, dass dieser Wert als einziger über dem nüchternen, wie auch postprandialen Vergleichswert lag.

3. Plasma mit 15o ooo Thrombozyten.
Im thrombozytenhaltigen Plasma lagen die Normalwerte beim Nüchternplasma bei 93,1 ET, beim Postprandialplasma bei 94,5 ET. Die Thrombineinheiten

lagen mit 9o,9 ET (normolipämische Diabetiker, mit Tabletten eingestellt), 79,7 ET (insulinbedüftige, normolipämische Patienten), 82,1 ET (hyperlipämische Patienten, mit Tabletten eingestellt) und 95,7 ET (insulinbedürftige, hyperlipämische Diabetiker) alle innerhalb einer 15%igen Schwankung, doch war auch hier bemerkenswert, dass die ersten 3 Werte unter, der Wert der insulinbedürftigen, hyperlipämischen Patienten über dem Normalwert lagen.

Insgesamt betrachtet lagen die Werte der ersten 3 Patientengruppen im thrombozytenfreien Plasma um etwa 3o% über dem Nüchternwert der Gesunden, im durchaktivierten und im Plasma von 15o ooo Thrombozyten u, höchstens 15% unter diesem Nüchternwert. Eine Ausnahmestellung nahm die Gruppe der insulinbedüftigen, hyperlipämischen Diabetiker ein: unter allen 3 Testbedingungen lagen die Werte relativ und absolut am höchsten, wobei der Wert im thrombozytenfreien Plasma mit 7o% über dem Normalwert die grösste Abweichung darstellt.

Die Tatsache, dass im thrombozytenfreien Plasma die grössten Unterschiede zwischen Diabetikern und Gesunden zu finden sind, ist nicht verwunderlich,

wenn man sich bestimmte Relationen vor Augen führt: gibt man beispielsweise im durchaktivierten Plasma oder im Plasma von 15o ooo Thrombozyten weitere 5o ooo Thrombozyten hinzu, so ist der Effekt nur gering, weil diese Thrombozyten relativ nicht ins Gewicht fallen bei den schon vorhandenen Aktivitäten. Gibt man aber im thrombozytenfreien Plasma diese 5o ooo Thrombozyten hinzu, so ist schon bei dieser geringen Zahl mit einer 5o%igen Thrombinbildung zu rechnen (BECK). Extrathrombozytäre, gerinnungsaktive Substanzen können deshalb bei der Testung nur im thrombozytenfreien Plasma in Erscheinung treten. Welche Ursachen kommen aber in Betracht, die zu einer Erhöhung der Thrombinaktivität im thrombozytenfreien Plasma führen? Grundsätzlich können die Veränderungen im Thrombozyten- , Plasmaprotein - oder Fettstatus zu suchen sein.

1. Thrombozytenstatus.

Durch die genormte Abzentrifugierung kann es zu einer erhöhten Vulnerabilität der Thrombozyten kommen (Mikrotraumatisierung) und zur Freisetzung von Thrombozytenfaktoren. Andererseits kann speziell in den Thrombozyten von Diabetikern eine Erhöhung von Thrombozytenfaktor 3 und 4 vorliegen, die dann durch die Traumatisierung partiell liberalisiert werden. Auch besteht die Möglichkeit, dass bei normalem Gehalt von Thrombozytenfaktor 3 und 4 artifizielle

Thrombozytenfaktoren wirksam werden. Bei Patienten mit Hyperlipidämie und Arteriosklerose konnte REIMER einen erhöhten Thrombozytenumsatz und eine Störung des Hämostasesystems nachweisen.

2. Plasmaproteinstatus.

In erster Linie kommt hier eine Vermehrung des Prothrombin-Komplexes (Faktor II,VII,IX und X) in Frage, wobei jedes dieser Einzelproteine zu einer erhöhten Thrombinaktivität beitragen kann. Auch eine Vermehrung der Accelerator-Aktivatoren ist möglich. Weiterhin ist auch denkbar, dass bei der Gerinnung Thrombin vermindert von Fibrin weggefangen wird. Eine Erhöhung der Thrombinaktivität würde ebenfalls bedingt werden durch eine Verminderung von Antithrombin und Anti-Prokoagulationsfaktoren im Plasma (Anti XIIa, Anti XIa, Anti-Aktivatorprodukt = Anti C_1 -Esterase, Anti Xa). Durch grössere Untersuchungen an thrombosegefährdeten Patienten konnte VON KAULLA - im Gegensatz zu GEILL - eine Depression von Antithrombin III, zusammen mit einer Aktivierung der Blutgerinnung im TGT nachweisen.

3. Fettstatus.

Störungen des Fettstoffwechsels - Zunahme der Gesamtlipide oder Änderungen einzelnder Fraktionen - spielen besonders bei Diabetikern eine Rolle. Vorangestellt seien die aus-

führlichen Beiträge von DE NICOLA und HECHT, die die Bedeutung der Lipide auf die Blutgerinnung untersuchten. Ganz allgemein gesagt stellt die Hyperlipidämie einen bedeutenden Risikofaktor bei thrombotischen Komplikationen von Diabetikern dar (JÄHNIGEN). Während GROSS hauptsächlich die Ursachen der Thrombosen im Anstieg der Beta-Lipoproteide sucht, deren stärkste Fraktion das Cholesterin ist, machen ALBRINK, EJARQUE, GESER und MÜLLER mehr eine Zunahme der Alpha - 2 - Globuline dafür verantwortlich. Nahezu einig sind sich die Autoren in der Bedeutung der FFS für die Entstehung von Thromben (DE NICOLA, HECHT, KNICK, KUNZ, SCHRADE, STORK) und jüngste Forschungen machen einen lipolytischen Serumfaktor als Ursache der gesteigerten Lipid-Mobilisation bei Diabetikern wahrscheinlich (BERGER). Leider war es in unseren Untersuchungen nicht möglich,die FFS der untersuchten Diabetiker zu bestimmen.

Eine herausragende Rolle in der Blutgerinnung spielen die Phosphatide. Die Kenntnis ihrer Bedeutung geht bis in das Jahr 1893 zurück (WOOLDRIDGE). Später fanden HOWELL und ZAK, daß vor allem ungesättigte Fettsäuren zur Blutgerinnung nötig waren, und FOLCH gelang es, das Kephalin in verschiedene Phosphatide zu fraktionieren. WALAAS fand vor allem bei spätmanifesten Diabetikern eine

Erhöhung der Kephalinfraktion um das 4 - 5fache. Während KUNZ für die erhöhte Thromboseneigung hauptsächlich die Zunahme von Phosphatidylätholamin (PE) verantwortlich macht, glaubt NORDØY und MARCUS eher an eine Wirkung des erhöhten Phosphatidylserinspiegels (PS). BARKHAN vermutet, dass speziell im TGT wahrscheinlich PE als Accelerator und PS als Inhibitor wirksam werden. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangt auch WOODSIDE, der herausfand, dass PS in hohen Dosen eine Hemmung der Blutgerinnung verursacht, während es zusammen PE synergistisch die Blutgerinnung beschleunigt.

Auf Grund der eigenen Untersuchungen scheint es ebenfalls wahrscheinlich, dass nicht die Hyperlipidämie allein für die Thromboseneigung verantwortlich ist. Dies zeigen die geringen Unterschiede zwischen normo- und hyperlipämischen Diabetikern einerseits, die grosse Differenz aber zwischen hyperlipämischen Patienten, die mit Tabletten und Patienten, die mit Insulin eingestellt waren andererseits. Auch lässt sich zwischen der Höhe des Fettspiegels und der Thrombinbildung keine eindeutige Beziehung herstellen. So spricht viel dafür, dass zusätzlich Störungen im Bereich des Thrombozyten- und Plasmaproteinstatus vorliegen können.

In wieweit die Thrombinbildung in den verschiedenen Gefäss-

abschnitten primär die Plättchenadhäsion und - aggregation an verändertem Endothel oder Subendothel thrombinunabhängig oder in wieweit sie durch Plättchenagglomeration erfolgt, ist schwer zu sagen. ENGELBERG konnte mit einer speziell entwickelten Apparatur beweisen, dass Thrombinbildung und Gerinnung die Hauptmechanismen bei der Thrombusentstehung sind und die Plättchenaggregation sekundär erfolgt. Hingegen glaubt JIPP, dass bei Diabetikern eine gesteigerte Thrombozytenadhäsivität den Anstoss zur Bildung von endothelialen Plättchenthromben gibt. FROST konnte nachweisen, dass Thrombozyten von Kaninchen, die cholesterinreiche Nahrung bekamen, eine erhöhte Adhäsionsbereitschaft an der Gefässwand zeigen.

Welche Bedeutung aber den Thrombozyten primär bei der Intravasalen Thrombusentstehung zuzumessen ist und in wieweit hemmende oder fördernde Plasmafaktoren eine Rolle spielen, bleibt zu klären späteren Untersuchungen vorbehalten.

ZUSAMMENFASSUNG

Wir untersuchten insgesamt 6o gesunde und 62 an Diabetes mellitus erkrankte Personen. Mit Hilfe des Thrombin-Generation-Tests war es uns möglich im thrombozytenfreien Plasma von Diabetikern eine Zunahme der Thrombineinheiten um 3o% nachzuweisen, im Falle der hyperlipämischen und insulinbedürftigen Patienten betrug die Steigerung sogar 7o% gegenüber den entsprechenden Normalwerten. Eine eindeutige Aussage, wodurch die Steigerung bedingt ist, lässt die vorliegende Untersuchung nicht zu, doch scheint die Zunahme der Thrombineinheiten in ursächlichem Zusammenhang mit dem erhöhten Thromboserisiko von Patienten mit Diabetes mellitus zu stehen.

LITERATUR

ALBRINK, M.J., LAVIETES, P.H., MAN, E.B.
Vascular disease and serum lipids in diabetes mellitus
Ann. intern. Med. 58 : 3o5 (1963)

BARKHAN, P., NEWLANDS, M.J., WILD, F.
Phopholipids from brain tissue as accelerators and inhibitors of blood coagulation
Lancet 2 : 234 (1956)

BECK, J.
Untersuchungen über die Verminderung der Thrombinbildung bei chronischer und akuter Niereninsuffizienz und ihre Ursachen
Dissertation, München 1968

BENEKE, G.
Pathologische Anatomie der Arteriosklerose
Med. Klin. 66 : 729 (1971)

BERGER, M.
Lipolytischer Serumfaktor als Ursache geeteigerter Lipid-Mobilisation bei Diabetes wahrscheinlich
Medical Tribune 6 Nr 28 (9.7.1971)

DE NICOLA, P.
Lipidi e coagulazione del sangue. Rapporti con la fisiopatologia e con la clinica
Farmaco (sci) 15 : 175 (196o)

DEUTSCH, E., FISCHER, M.
Die Verwendung eines stabilen Phospholipidpräparates als Thrombozytenersatz bei Gerinnungsanalysen
Arzneimittelforsch. 13 : 439 (1963)

EJARQUE, P., MARBLE, A., TULLER, E.F.
Proteins, lipoproteins and protein bound carbohydrates in the serum of diabetic patients
Amer.J. Med. 27 : 221 (1959)

ENGELBERG, H.
Studies with the Chandler rotating loop. Evidence that thrombin generation is reponsible for the formation of the artificial in vitro thrombi
Thromb.Diath. Haemorrh. 22 : 344 (1969)

FLORA, G.
Zur Häufigkeit der diabetischen Stoffwechsellage bei stenosierenden Angiopathien der unteren Extremitäten
Med. Welt 17 : 1365 (1966)

FOLCH, J.
Brain cephalin, a mixture of phosphatides
J. Biol. Chem. 146 : 35 (1942)

FROST, H.
Zur Pathogenese obliterierender Arterienprozesse bei Hypercholesterinämie
Throm.Diath. Haemorrh. 22 : 351 (1969)

FUROVICS, J., PIZA, F., ZECKERT, F.
Diabetes und Durschblutungsstörungen
Wien. med. Wschr. 117 : 926 (1967)

GEILL, T.
The thrombin generation test on plasma
Geront. Clin. 2 : 195 (196o)

GESER, C.A., ZIEGERT, H., HESS, H., MEHNERT, H.
Kohlenhydrat - und Fettstoffwechsel bei diabetischen und nichtdiabetischen Arteriosklerotikern
Med. Klin. 65 : 664 (197o)

GROSS, R.
Serumlipide bei Diabetikern verschiedenen Alters
MMW 111 : 1887 (1969)

HECHT, E.R.
Lipids in blood clotting
American lecture series. Publication Nr 606

HOFF, H.F.
Unfähigkeit zum Abbau von Cholesterin in Gefässwand
Medical Tribune 6 Nr. 32 (6.8.1971)

HOWELL, W.D.
The role of antithrombin and thromboplastin (thromboplastic substance) in the coagulation of the blood
Am. J. Physiol. 29 : 187 (1911 - 12)

HOWELL, W.D.
The nature and action of the thromboplatic (zymoplastic) sustance of the tissues
Am. J. Physiol. 31 : 1 (1912 - 13)

JÄHNIGEN , B.
Bestimmung der Serumlipide und Chylomikronen bei Diabetikern mit peripheren arteriellen Durchblutungsstörungen
Z. ges. inn. Med. 25 : 550 (1970)

JIPP, P., SCHLAAK, M., GRUNWALD, H., SCHAEFER, F.
Glucosetoleranz und Arteriosklerose
Med. Klin. 66 : 1738 (1971)

JOSLIN, E.P.
Diabetes 1956
MMW 98 : 1oo9 (1956)

KANNEL, W.B., SKINNER, J.J., SCHWARTZ, M.J., SHURTLEFF, D.
Intermittent claudication incidence in the Framingham study
Circulation 41 : 875 (197o)

VON KAULLA, K.N., VON KAULLA, E.
Thrombin generation in normal subject and cardiac patients
Circ. Res. 14 : 436 (1964)

VON KAULLA, E.
Antithrombin 3 depression and thrombin generation acceleration in women taking oral contraceptives
Am. J. Obstet. Gynecol 1o9 : 868 (1971)

KNICK, B.
Adipositas, Arteriosklerose und Diabetes mellitus
Med. Welt 18 : 2793 (1968)

KUNZ, D.
Phosphatidylätholamin bei periphären arteriellen Stenosen auffällig erhöht
Medical Tribune 6, Nr 36 a (7.9.1971)

MAC FARLANE, R.G., BIGGS, R.
A thrombin generation test. The application in hemophilia and thrombocytopenie
J. Clin. Path. 6 : 3 (1953)

MAC LAGAN, N.F., BILLIMORIA, J.D.
Food lipids and blood coagulation
Lancet 2 : 235 (1956)

MARCUS, A.J., ULLMANN, H.L., WOLFMANN, M.
Studies on blood platelet phospholipids
J. Lipid. Res. 1 : 179 (1960)

MARX, R.
Mündliche Mitteilungen

MEHNERT, H.
Diabetische Mikroangiopathie und Stoffwechselkontrolle
Dtsch. med. Wschr. 94 : 42 (1969)

MÜLLER, H., KLUTHE, R.
Das Verhalten verschiedener Alpha- 2 - Globuline bei Diabetes mellitus
Med.Klin. 66 : 14 (1971)

NORDØY, A., ROEDSET, J.M.
Platelet phospholipids ans their function in patients with juvenile diabetes and maturity onset diabetes
Diabetes 19 : 698 (197o)

PITNEY, W.R., DACIE, J.V.
A simple method of studying the generation of thrombin in recalcified plasma. Application in the investigation of haemophilia
J.Clin. Path. 6 : 9 (1953)

REIMERS, H.J., SCHMAHL, F.W., HUTH, K., LASCH, H.G.
Blutgerinnung, insbesondere Thrombozytenumsatz, bei Hyperlipoproteinämien
Klin. Wschr. 5o : 12 (1972)

SCHRADE, W., BOEHLE, E., BIEGLER, R.
Über Fortschritte der Fettstoffwechselforschung und ihre klinische Bedeutung
DMW 86 : 781 (1961)

SILVER, M.J.
Evaluation of activity of phospholipids in blood coagulation in vitro
Thromb. Diath. Haemorrh. 10 : 164 (1963)

STORK, A., FABIAN, E., FABIAN, D., SPONAROVA, J.
Die Mobilisierung der freien Fettsäuren bei der Zuckerkrankheit
Diabetologia 4 : 3o5 (1968)

WALAAS, E., WILLE, L., HAUGEN, H.N.
Serum phospholipids in diabetic patients with late manifestation
Diabetologia 7 : 36o (1971)

WEISWEILER, P.
Darstellung und Eigenschaften lipolytisch wirksamer Polypeptide aus Hypophysen von Schweinen und von Menschen
Dissertation München 1971

WIDMER, L.K., GREENHER, D.A., KANNEL, W.B.
Occlusion of peripheral arteries. A study of 64oo working subjects
Circulation 3o : 836 (1964)

WOODSIDE, E.E., THERRIAULT, D.G., KOCHOLATY, W.
Lipids of human platelets and their action on the blood coagulation process
Blood 24 : 76 (1964)

WOOLDRIDGE, L.C.
On the chemistry of the blood, and other scientific papers
Arr. by v. Horseley and E. Starling, London
Kegan Paul, 1893 page 354

ZAK, E.
Studien zur Blutgerinnungslehre
Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 7o : 27 (1912)

ANHANG MIT

ABBILDUNGEN

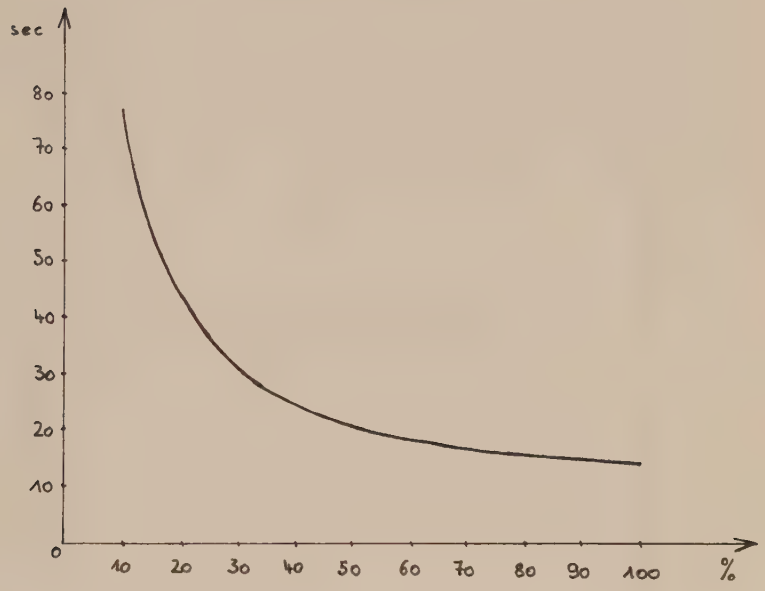

Abb. 1: Bezugskurve zur Thrombokinasezeit.

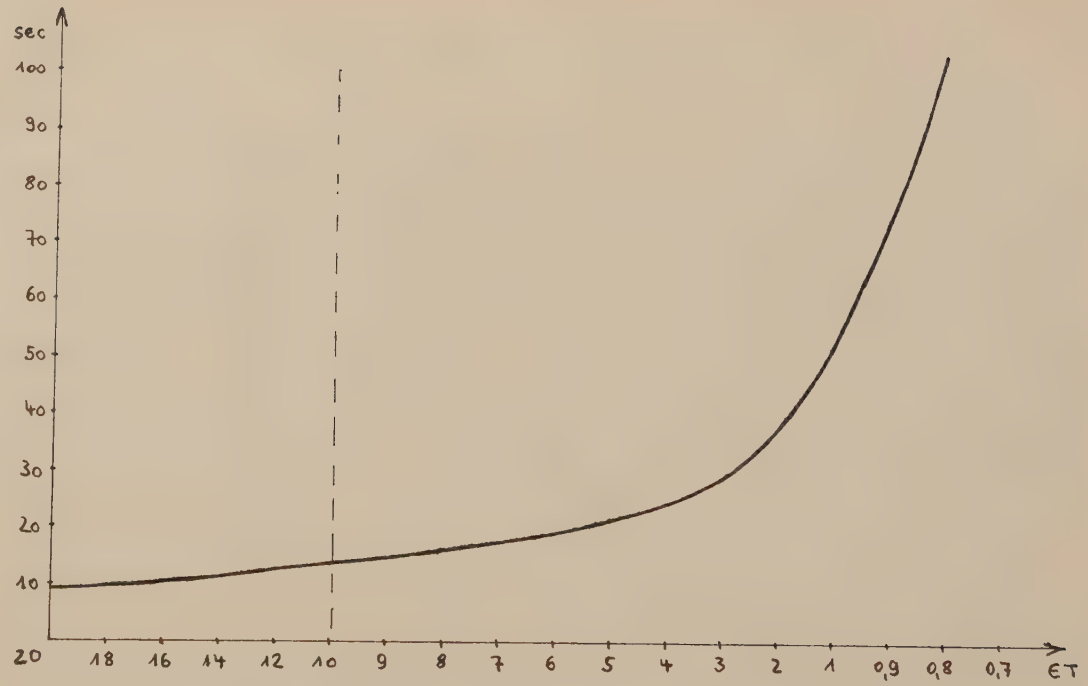

Abb. 2: Standartkurve zum Thrombin-Generation-Test.

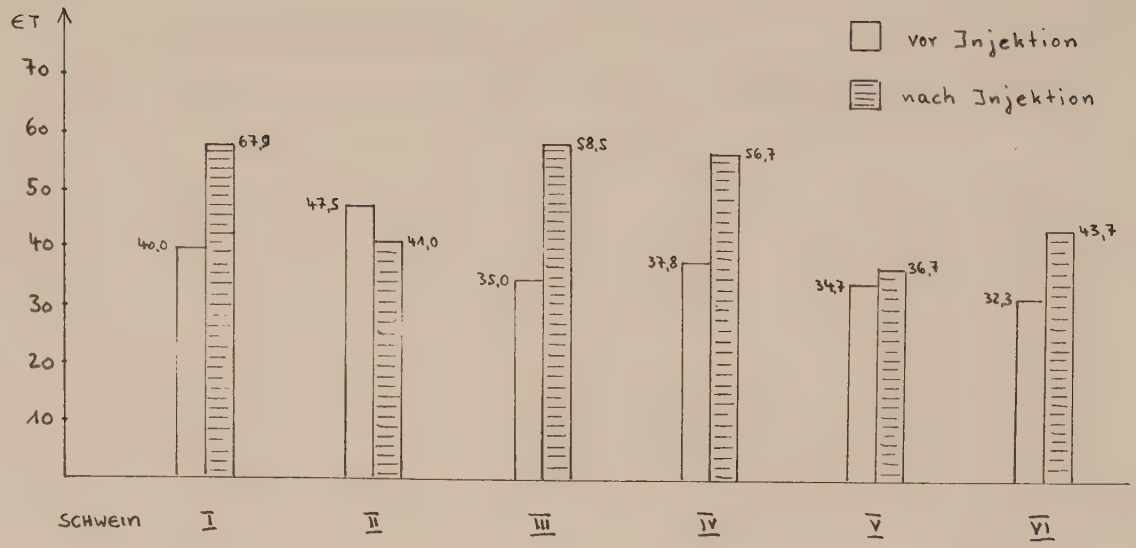

Abb. 3: Thrombineinheiten beim Schwein (400 000 Thrombozyten) vor u. nach Injektion von Lipotropin.

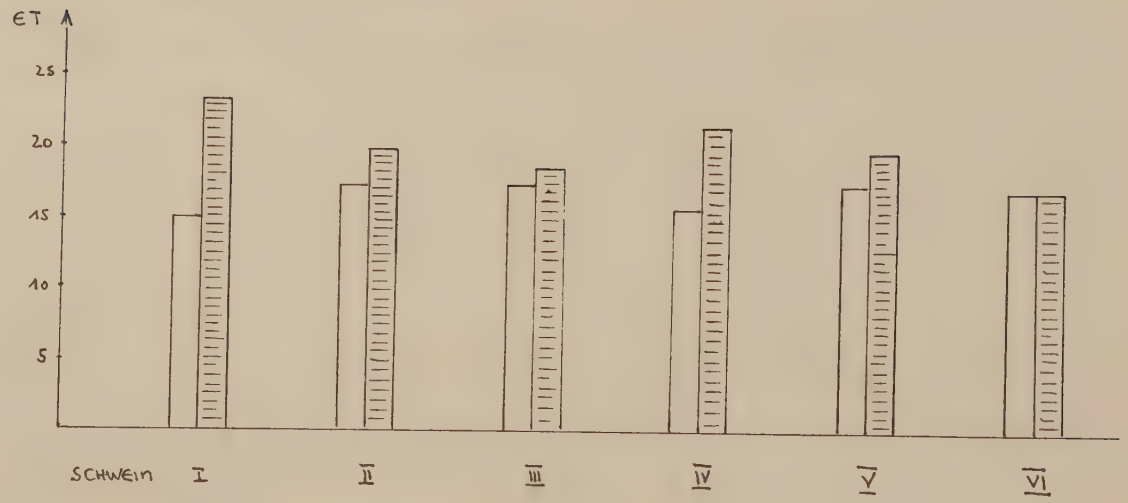

Abb. 4: Thrombineinheiten beim Schwein (thrombozytenfrei) unter den gleichen Testbedingungen wie Abb. 3

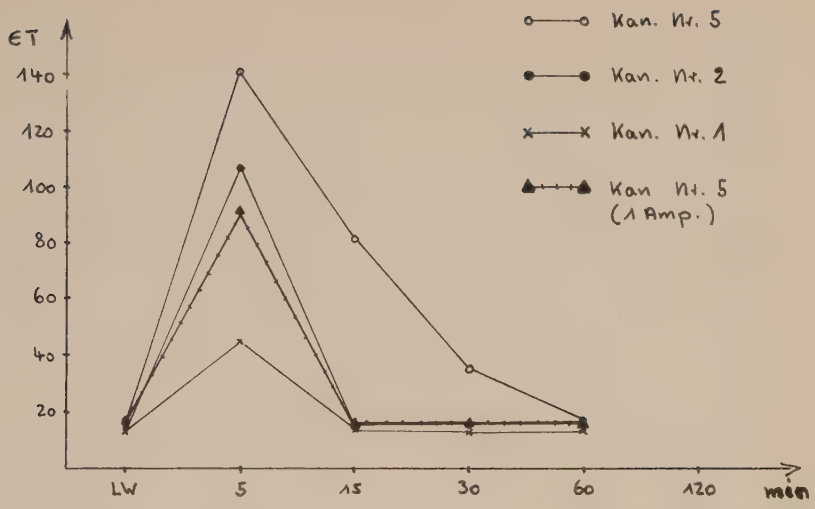

Abb. 5: Injektion von Tachostyptan bei Kaninchen im thrombozytenfreien Plasma.

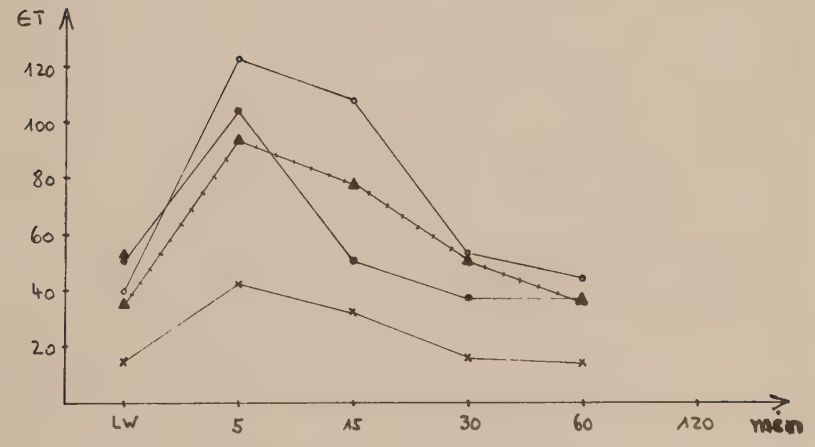

Abb. 6: Injektion von Tachostyptan bei Kaninchen im Plasma von 300 000 Thrombozyten.

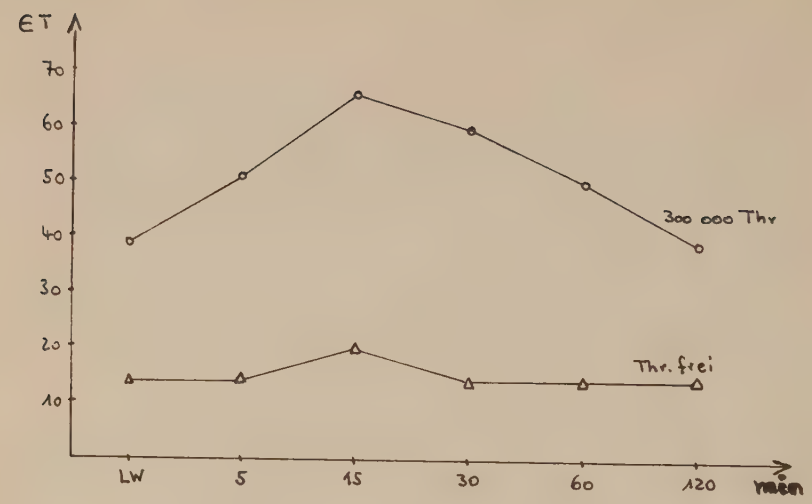

Abb. 7: Injektion von Butter bei einem Kaninchen.

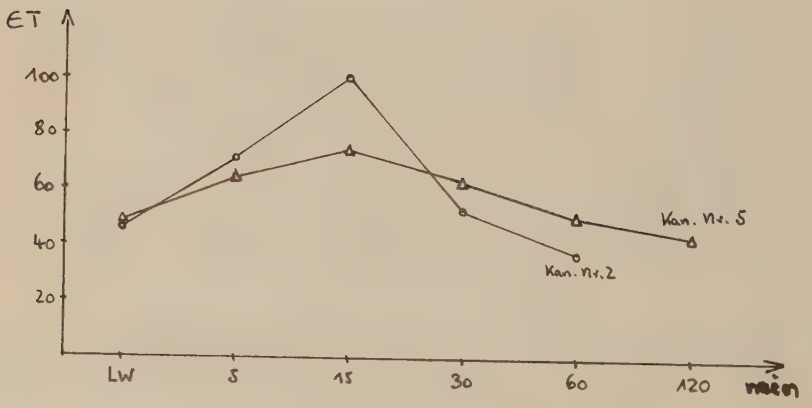

Abb. 8: Injektion von eigenen, gewaschenen u. tiefgefrorenen Thrombozyten bei 2 Kaninchen (Plasma von 300 000 Thrombozyten).

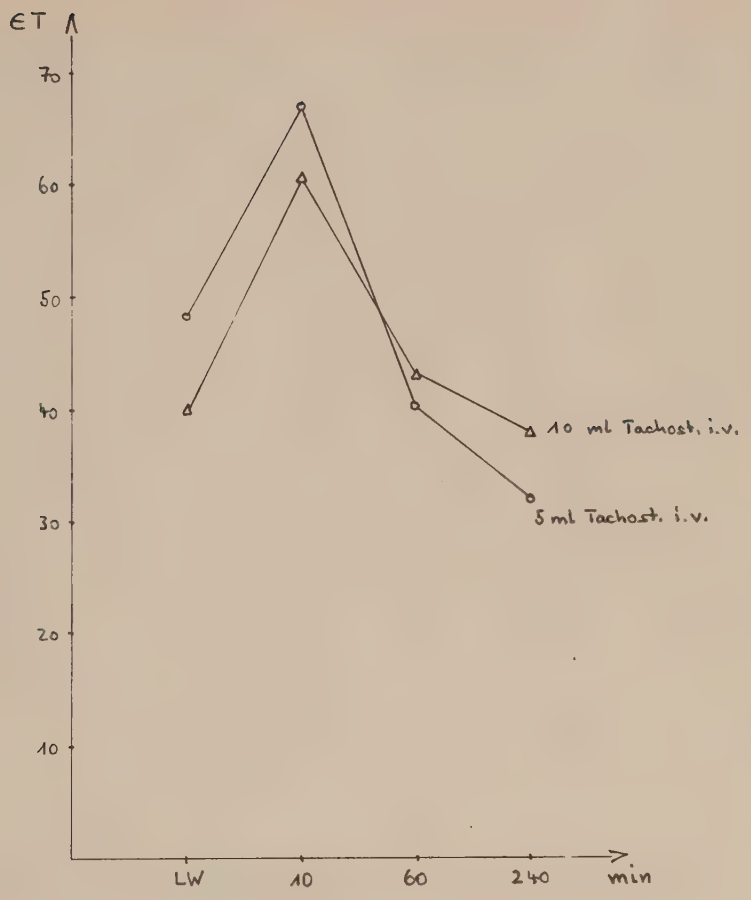

Abb. 9: Injektion von Tachostyptan bei 2 Personen.

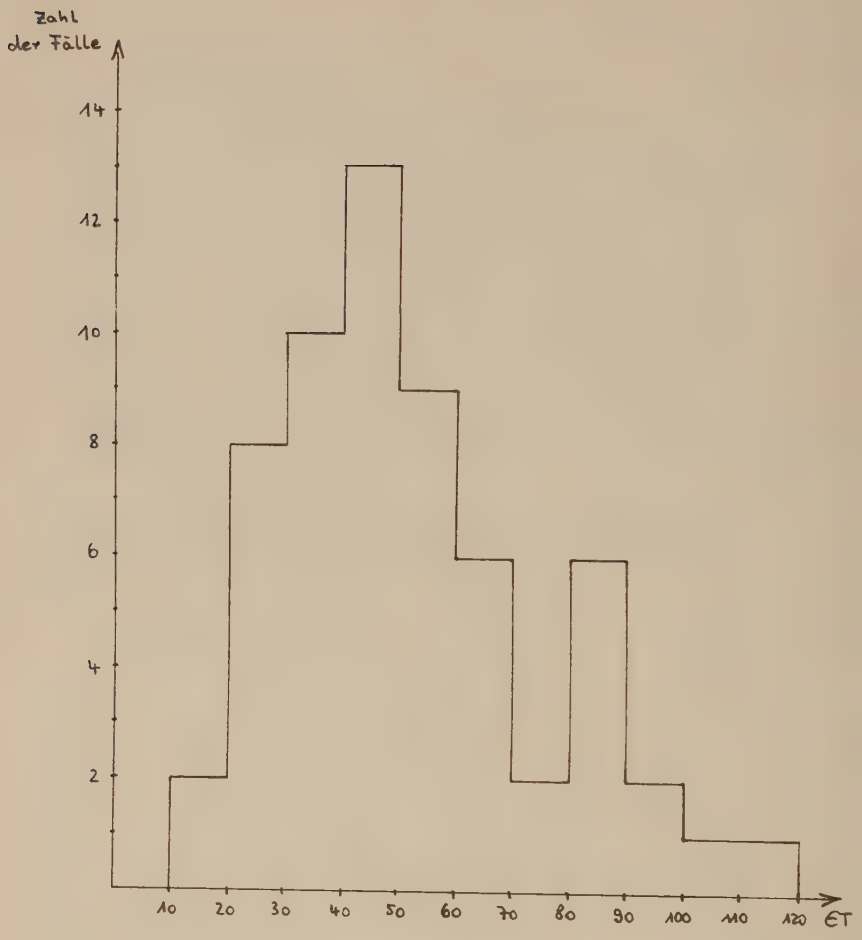

Abb. 10: Verteilungsmuster bei Normalpersonen (thrombozytenfreies Plasma).

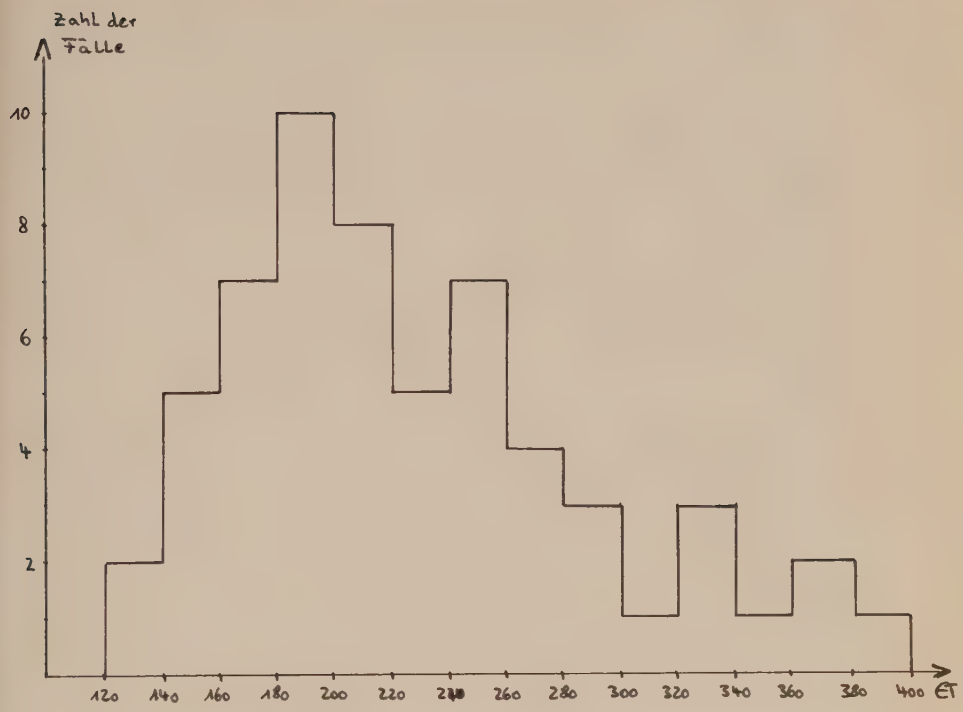

Abb. 11: Verteilungsmuster bei Normalpersonen (Plasma von 150 000 Thrombozyten).

Abb. 12: Verteilungsmuster bei Normalpersonen (Plasma mit Tachostyptan vollaktiviert).

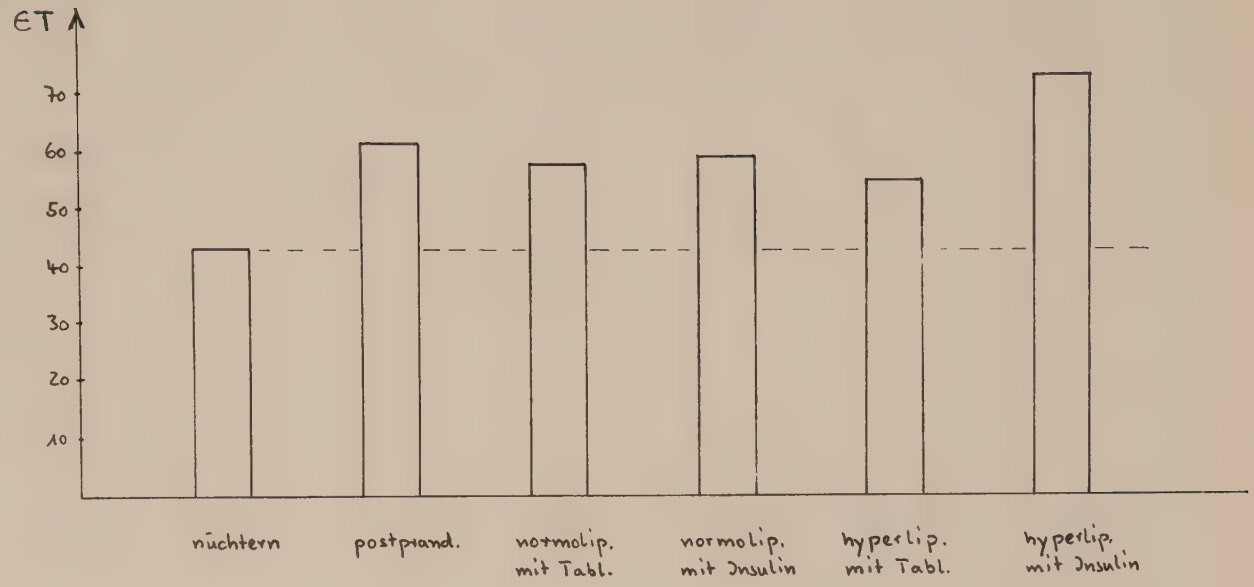

Abb. 13: Testergebnisse der einzelnen Gruppen im thrombozytenfreien Plasma.

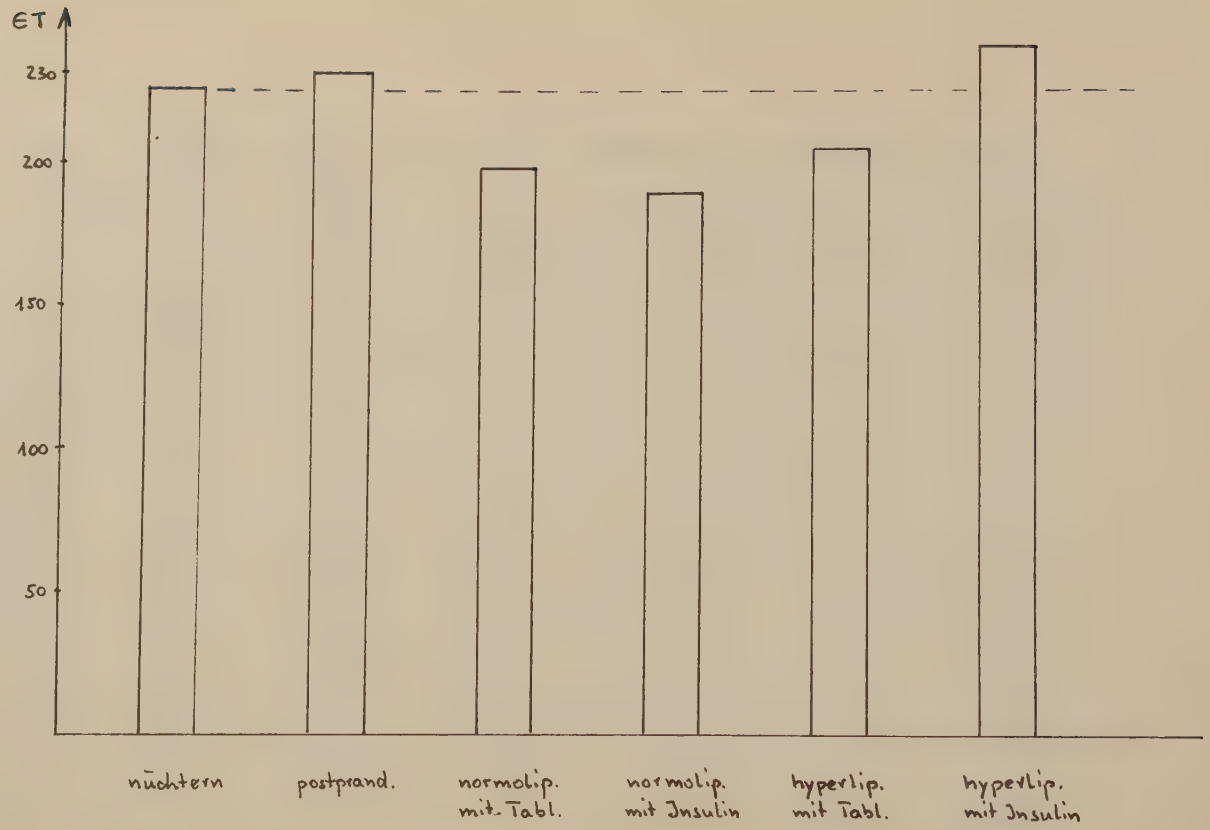

Abb. 14: Testergebnisse der einzelnen Gruppen im durchaktivierten Plasma.

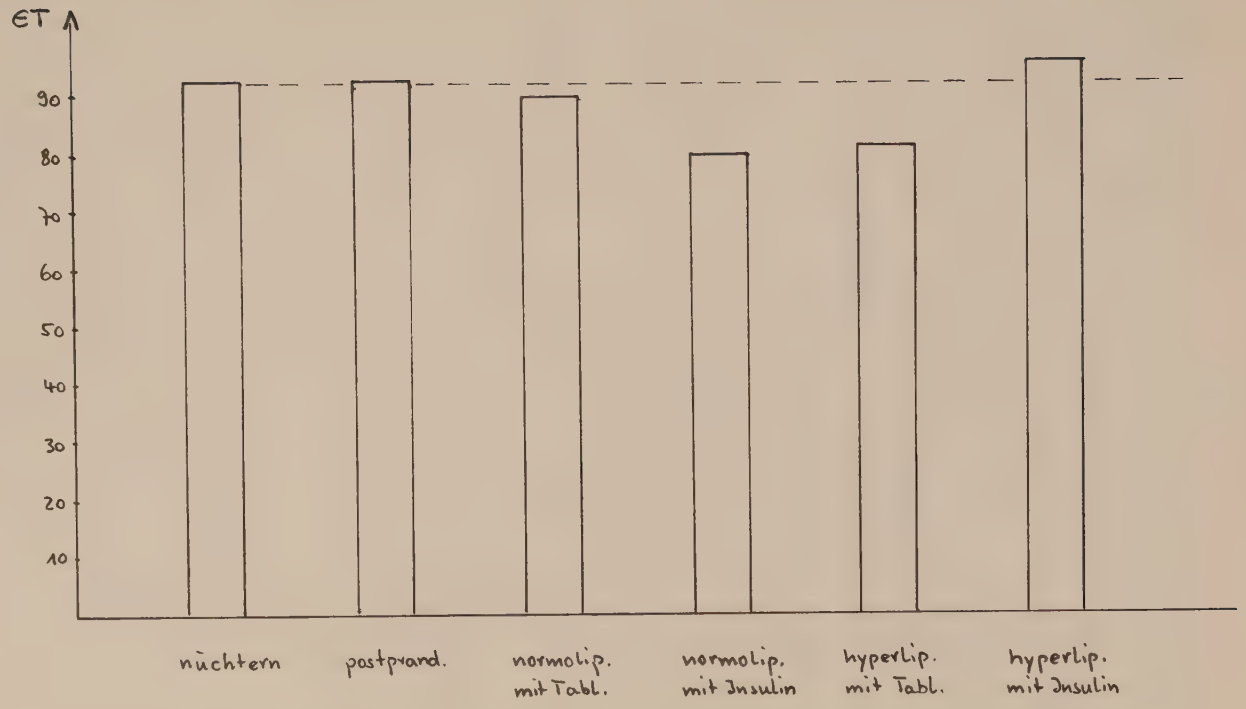

Abb. 15: Testergebnisse der einzelnen Gruppen im Plasma von 150 000 Thrombozyten.

Herrn Professor Dr. H. Schwiegk danke ich für die Übernahme des Coreferates.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. R. Marx für die Überlassung des Themas, des Laborplatzes und die hilfsbereite Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ebenfalls bin ich Herrn Professor Dr. H. Mehnert, Chefarzt der III. Med. Abt. des Schwabinger Krankenhauses, für die freundliche Hilfe bei der Suche nach Patienten zu Dank verpflichtet.

Nicht zuletzt möchte ich auch den Mitarbeiterinnen im Labor, Frau Dr. Murr, Frau Meisner, Frl. Erben und Frl. Kokott für ihr freundliches Entgegenkommen herzlich danken.

Lebenslauf

Name:	Peter G. Jerg
Geburtstag:	1. April 1944
Geburtsort:	Rißtissen
Eltern:	Johannes Jerg, Automech.Mstr.
	Pia Jerg, geb. Hinderhofer
Schulen:	1950 - 55 Volksschule Rot b. Lauph.
	1955 - 62 Progymnasium Laupheim
	1962 - 65 Schubartgymnasium Ulm/Do.
Reifeprüfung:	26.Febr. 1965 in Ulm/Do.
Wehrdienst:	1965 - 67 in Landshut u. Regensburg
Studium:	1967 - 72 an der Ludwig-Maximilian-Universität München
Ärztl.Vorprüfung:	2. Okt. 1969 an der Ludwig-Maximilian-Universität
Ärztl. Prüfung:	18. Dezember 1972 an der Ludwig-Maximilians-Universität München